Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg.
Direktor: Prof. Dr. Schrader

Über spezifische Färbung beim forensischen Spermanachweis

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Würde des Doktors der Medizin

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Georg Kellner

aus Nietleben bei Halle a. S.

Halle/Saale
1938

Carl Nieft, Buchdruckerei und Verlag, Bleicherode a. H.

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Walcher.

2. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Schmidt.

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1937.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Der Spermanachweis ist forensisch von großer Bedeutung und hat wohl fast immer entscheidenden Einfluß auf das weitere Leben eines Einzelmenschen, wie auch seiner Umgebung: Zivilrechtlich bei Anfechtung einer Ehe wegen Sterilität oder dauernder Azoospermie, oder wenn die Möglichkeit der Paternität innerhalb der gesetzmäßigen Empfängniszeit aus den gleichen Gründen bestritten wird. Ferner wird der Spermanachweis strafrechtlich nötig bei den Vergehen gegen die bekannten §§ 174—178 des Strafgesetzbuches, also hauptsächlich bei Paederastie und vor allem bei Notzucht.

Zuerst betont Koblanck, Polizeibezirksarzt in Berlin, in einer Arbeit vom Jahre 1853 die grundlegende Wichtigkeit der Untersuchung aller suspekten Flecke in derartigen Fällen. Er stellte auch schon den bisher stets anerkannten Grundsatz auf, daß als Beweis für das Vorhandensein von Sperma unbedingt gefordert werden muß, daß mindestens ein Spermatozoon in seiner Ganzheit bestehend aus Kopf, Mittelstück und Schwanzteil aufgefunden wird.

Wenn man bedenkt, daß in einem Ejakulat normalerweise Millionen von Spermatozoen vorhanden sind, scheint dieser Nachweis auf den ersten Blick leicht, einfach und unbedingt erfolgversprechend zu sein. Jedoch kann das Auffinden von Spermatozoen zu den schwierigsten und vor allem zeitraubendsten Aufgaben in der gerichtlichen Medizin gehören. Spermatozoenfreie Stellen des zu untersuchenden Gewebes sind zahlreich vorhanden; dazu kommen die Fälle von Oligozoospermie; dann können bei öfterer sexueller Betätigung die Spermatozoen an Zahl sehr stark abnehmen, beziehungsweise überhaupt fehlen; durch äußere Einflüsse können sie an Gestalt verändert oder gänzlich zerstört werden; sodann gibt es Kunstprodukte, die sowohl im ungefärbten als auch gefärbten Präparat täuschend ähnlich sein können.

Um diese Schwierigkeiten zu umgehen und um auch in den Fällen von primärer Azoospermie, sowie bei secundärer, z. B. bei

Epididymitis, und drittens bei der Zerstörung der Spermatozoen durch äußere Einflüsse, zu einem Ergebnis zu gelangen, sind eine ganze Reihe physikalischer und chemischer Untersuchungsmethoden angegeben worden, bei denen man auf die Darstellung der charakteristischen Formelemente verzichten zu können glaubte.

Die Anwendung von polarisiertem Licht empfiehlt de Nabele. Die Spermatozoen erscheinen dabei dunkel; natürlich nicht nur die menschlichen, sondern auch die tierischen. R. Heller beleuchtet mit kurzwelligem Licht (ultraviolett). Suspekte Flecke zeigen sehr starke, bläulich-weiße Fluorescenz. Dieser Nachweis ist aber ebensowenig spezifisch, da alle eiweißhaltigen Substanzen aufleuchten.

Die makrochemischen Farbreaktionen von Orfila (verdünnte Salpetersäure), Lassaigne (Bleioxyd und Kalilauge) und Petel-Labiche (Ammoniakkarmin und Differenzierung mit Sodalösung) brauchen nicht weiter erwähnt zu werden, da ihnen keinerlei Spezifität zukommt.

An Stelle der makrochemischen Reaktionen hat man natürlich auch mikrochemische angestellt. Als Erster dachte Böttcher an eine Kristalldiagnose des Spermas mittels der sogenannten Böttcher'schen Spermatinkristalle. Doch er hegte schon Zweifel an ihrem Wert, weil er diese Kristalle auch bei anderen Organflüssigkeiten beobachtet hatte.

Sehr bekannt geworden sind die chemischen Nachweise von Florence (Jodjodkalium), Barberio (wässrige Pikrinsäurelösung oder Esbach) und Bokarius (gesättigte wässrige Pikrinsäurelösung und Kadmiumjodid), deren Verfahren noch öfters abgeändert und verfeinert worden sind. Mehr als den Wert von Vorproben haben diese Methoden aber nicht, da es Fälle gibt, in denen bestimmt Sperma vorliegt und doch keine Kristallbildung eintritt, während andererseits andere Gewebssäfte, wenn sie mit den angegebenen Lösungen versetzt werden, die gleichen Gebilde aufweisen, die als Spermakristalle beschrieben wurden. Noch eine ganze Anzahl von Proben sind angegeben worden, da menschliches Sperma große Neigung zur Kristallbildung hat. Sogar spontane Bildung von sogenannten Schreiner-Böttcher'schen Kristallen ist beobachtet worden.

Diese Vorproben sind wohl in manchen Fällen eine gute Unterstützung bei der Auffindung verdächtiger Flecke, aber mehr auch nicht. Schon Thoinot hat 1910 ausgesprochen: „Ist die Reaktion positiv, kann man nichts daraus schließen; ist sie aber negativ, so kann man noch weniger daraus schließen; man darf

sie nur als Probe mit dem Ergebnis einer Möglichkeit, aber nicht der Wahrscheinlichkeit betrachten".

Da es bis heute keine zuverlässigen, also absolut beweisende Methoden eines spezifischen physikalischen oder chemischen Spermanachweises gibt, ist man darauf angewiesen, bei den in Frage stehenden Untersuchungen die charakteristischen Formelemente, die Spermatozoen, darzustellen.

Das einfachste Verfahren besteht natürlich in der Betrachtung des Spermas oder seines Wasserextraktes im ungefärbten Präparat. Ältere Verfahren bauen sich auf der Festigkeit der Spermatozoen gegen Schwefelsäure auf. Vogel (1882) weicht erst mit Wasser auf, schabt dann ab und mazeriert auf dem Objektträger mit verdünnter Schwefelsäure. Grigorjew behandelt den Fleck von vornherein mit H_2SO_4 und will eine Vernichtung aller organischen Elemente mit Ausnahme der Spermien erzielen. Durch Erhitzen auf dem Objektträger beschleunigt de Dominicis die Trennung. Filomusi-Guelfi erleichterten und verkürzten das Verfahren durch Anwendung von verdünntem Ammoniakwasser. Üblich ist auch die Untersuchung in Hofmann-Paccinischer Flüssigkeit, und wie Puppe angegeben hat, liefert das von Max Richter zum Blutnachweis angegebene Pepsin-Glycerin sehr gute Resultate beim Spermanachweis. Gelingt die Darstellung der Spermatozoen, so sind natürlich alle anderen Prüfungen und komplizierten Verfahren hinfällig.

Eine Betrachtung des ungefärbten Präparates kann zwar zum Ziele führen; aber oft wird man aus den schon oben angeführten Gründen (spermatozoenfreie Stellen, primäre und secundäre Oligozoospermie, äußere Einflüsse, Kunstprodukte) zu keinem abschließenden Ergebnis kommen. Dazu kommen noch die Untersuchungen von Gewebsfasern, durch die vorhandene Spermatozoen überdeckt werden können oder aber, was noch häufiger der Fall ist, daß die Schwanzteile den Fasern so dicht anliegen, daß eine Unterscheidung durch das Auge nicht möglich ist. Werden jedoch Fasern nicht direkt untersucht, sondern wird abgeschabt oder mazeriert, so sind Continuitätstrennungen der Schwänze von den Spermatozoenköpfen häufig, vor allem bei der meist verwendeten Schwefelsäure. Ein Entscheid ist dann natürlich nicht möglich, da zum Beweis vollkommen erhaltene Spermatozoen erforderlich sind.

Um nun auch in diesen Fällen rasch und sicher zu einem Ergebnis zu gelangen, hat es an Versuchen, eine elective oder

gar spezifische Färbung für Spermatozoen zu finden, nicht gefehlt. Eine große Zahl von Färbemethoden sind im Laufe der Jahre angegeben worden, da die Samenfäden eine Affinität zu fast allen Farbstoffen zeigen. Roussin färbte 1867 mit wässriger Jodjodürlösung. Hager (1871) benutzte Pikrinsäure. Mit Ammoniakkarmin erzielte Longuet (1876) recht gute Färbungen. Renaut (1880) verwendete ein Gemisch von Eosin-Glycerin. Später kamen dann noch die gebräuchlichsten Farbstoffe hinzu. Baecchi färbte mit Säurefuchsinlösung oder Methylenblau. Auch Löffler'sches Methylenblau kann angewandt werden. Ungar gab eine Methylgrünlösung, die einige Tropfen Salzsäure enthält, an. In unserem Institut wird eine von Corin und Stockis angegebene Erythrosin-Ammoniaklösung (Erythrosin 0,5; 25 %ige wässrige Ammoniaklösung ad 100) benutzt, die sich für den schnellen Nachweis sehr gut eignet aber den Nachteil hat, daß sie nicht lange haltbar ist. Die Reihe der angegebenen Färbungen könnte noch weiter fortgesetzt werden; aber schon aus dieser Mannigfaltigkeit ergibt sich, daß wohl keine Methode absolut zufriedenstellenden Erfolg hat. Eine elective Färbung kann man mit diesen einfachen Färbungen wohl in manchen Fällen erzielen. So bleiben z. B. bei Anwendung der Erythrosin-Ammoniaklösung die Gewebsfasern fast ungefärbt, die Köpfe der Spermatozoen jedoch erscheinen leuchtend rot, die Schwänze blaßrosa. Auch Ungar erhielt mit der salzsauren Methylgrünlösung eine ganz gute unterschiedliche Wirkung. Für Spermatozoen spezifisch ist aber keine dieser Färbungen.

Dieses Ziel hat man unter Zuhilfenahme von Gegen- und Doppelfärbungen zu erreichen versucht. G. Straßmann empfiehlt die Anwendung der Gram'schen Bakterienfärbung in Kombination mit der von Baecchi angegebenen Salzsäurefuchsinlösung. Dieser wiederum nimmt, wenn die Eigenfarbe des Gewebes bedeutungslos ist, eine Mischung von je 1 Teil Säurefuchsinlösung und Methylenblaulösung auf 40 Teile Salzsäure. Ungar hat noch Färbungen angegeben mit dem bekannten Haematoxilin-Eosin, ferner Doppelfärbungen mit Carminalaun-Eosin und Vesuvin-Eosin. Ein Verfahren hat noch Joesten vorgeschlagen, das aber viel zu umständlich ist und trotzdem wie alle erwähnten Doppelfärbungen doch nicht spezifisch ist, da Fremdkörper und andere zellige Bestandteile, wenn auch nicht den gleichen Farbton, so doch die gleiche Grundfarbe annehmen.

Im „Archiv für Kriminologie" (Kriminalanthropologie und Kriminalistik) Band 98, 3. und 4. Heft S. 161 erschien 1936 folgende Mitteilung über Doppelfärbung von Spermapräparaten des

Chemikers Dr. W. Schatz und seines Assistenten Dr. A. Köster aus Halle a. S.

„Die bisherigen Färbemethoden von Spermaauszügen zur Auffindung der Spermatozoen krankten meistens daran, das letztere und das gesamte Beiwerk, besonders auch die den Spermaköpfchen oft ähnlichen Hefezellen, gleichartig gefärbt im Gesichtsfeld des Mikroskopes lagen.

Ich (Schatz) wende seit 14 Jahren ein Doppelfärbeverfahren an, das bei seiner einfachen Handhabung den Vorteil hat, die Spermatozoen sehr leicht und schnell auffinden zu lassen. Diese sind in fortlaufender Abschwächung tief- bis hellblau gefärbt. Der vordere blasenförmige ovale Kopfteil der Spermatozoen wird, wie bei der Methylenblaufärbung, nur schwach, dagegen der Teil, dem die Geisel ansitzt, kräftig blau gefärbt. Die Geiseln werden tief rot, alles andere einschließlich der Hefezellen jeder Art karmoisinrot. Die Färbung ist gut haltbar, das Präparat bei starker Vergrößerung mit Oelimmersion betrachtet, sehr schön.

Die Färbung erfolgt im lufttrockenen, mit absolutem Alkohol kurz fixierten Spermaauszug ungefähr 1 — 2 Min. lang. Bei der Farblösung handelt es sich um die von Pappenheim und Krystallowitz zur Doppelfärbung von Go.-Präparaten zusammengestellte Methylgrün-Pyroninlösung: 20 Glyzerin; 2,5 Alkohol; 0,15 Methylgrün; 0,25 Pyronin; 80 ccm 2 %iges Karbolwasser.

Verschiedene, von meinem Assistenten Dr. Köster durchgeführte Färbungen von Sperma und Hefezellen mit dieser Lösung, bestätigten meine jahrelangen Beobachtungen, daß nur die Spermaköpfchen blau, dagegen die Hefezellen rot gefärbt werden. Diese Tatsache dürfte insofern von Bedeutung sein, als man mit der genannten Doppelfärbung auch die unbegeiselten Spermatozoen als solche ansprechen und auswerten kann, sofern sie die obengenannte Blaufärbung angenommen haben."

Schatz behauptet also erstens, daß seine Färbemethode für Spermatozoen spezifisch sei; denn „alles andere einschließlich der Hefezellen jeder Art" soll karmoisinrot gefärbt werden.

Zweitens glaubt er den alten Grundsatz, daß zum positiven Beweis des Vorhandenseins von Sperma mindestens ein Spermatozoon in seiner Ganzheit aufgefunden werden muß, verlassen zu können. Im letzten Satz führt er aus, daß „man auch die unbegeiselten Spermatozoen als solche ansprechen und auswerten kann."

Da diese Angaben eine grundlegende Neuerung auf dem Gebiete des forensischen Spermanachweises darstellen, unterzog ich sie einer eingehenden Nachprüfung.

Um für die Untersuchungen geeignetes Sperma zu haben, entnahm ich dieses mit Hilfe von Kapillaren den männlichen Leichen Erhängter. Soweit es sich bei den Färbungen um Spermaflecke handelt, benutzte ich dazu Material aus der Sammlung des Institutes.

Als Färbezeit gibt Schatz ungefähr 1 — 2 Minuten an. Zur Feststellung, ob vielleicht eine optimale Färbezeit vorhanden ist, stellte ich eine Versuchsreihe mit 8 Spermaauszügen an, die nach Vorschrift gefärbt, mit destilliertem Wasser abgespült und lufttrocken mit Kanadabalsam eingedeckt wurden. Schon bei starker Vergrößerung, mit Oelimmersion betrachtet natürlich noch besser, lagen die Spermatozoen, wie angegeben, sehr schön und elektiv gefärbt im Blickfeld, ganz einwandfrei zu unterscheiden von abgestoßenen Epithelien, Zelldetritus und sonstigem Beiwerk, das karmoisinrote bis violette Farbe angenommen hatte. Die Präparate, die 30 Sek., 1 oder 2 Min. gefärbt wurden, waren zwar etwas blasser als die, die länger der Farblösung ausgesetzt wurden; aber eine wesentliche Steigerung des Effectes wurde dadurch nicht erzielt. Auch eine Überfärbung ist nicht möglich; denn ein Präparat, auf das die Farblösung absichtlich 24 Stunden einwirken konnte, zeigte noch eine sehr schöne Färbung. Von einer optimalen Färbezeit kann also kaum gesprochen werden, und um mit den gemachten Angaben bei den folgenden Vergleichsfärbungen im Einklang zu bleiben, wurde im allgemeinen 2 Min. gefärbt, falls nicht aus besonderen Gründen eine andere Zeit angegeben wird.

Über die Nachbehandlung ist nichts Näheres vorgeschrieben. Statt mit destilliertem Wasser abzuspülen, wieder zu trocknen und mit Kanadabalsam einzudecken, kann man auch so verfahren, daß man die Farblösung vom Objektträger ablaufen läßt und gleich ein Deckglas auflegt. Die Spermatozoen treten mit den leuchtend blau gefärbten Köpfen und karmoisinroten Schwänzen gut hervor. Das Präparat ist aber nicht haltbar. Eine ganz andere Ausführung mit dem gleichen Ergebnis kann man so vornehmen, daß man in einer Kapillare Spermaauszug und Farblösung ungefähr im Verhältnis 1 : 2 aufzieht, gut mischt, wenige Tropfen auf einen Objektträger tut und dann, nachdem ein Deckglas aufgelegt worden ist, untersucht. Zur Herstellung von Schnellpräparaten eignet sich die Methode ausgezeichnet, vor allem dann,

wenn praktischerweise zur Materialgewinnung schon Kapillaren verwendet werden.

Da diese Präparate eine wirklich gute elective Färbung aufwiesen, mußte nun untersucht werden, ob diese auch noch gelingt, wenn das Sperma verschiedenen äußeren Einflüssen ausgesetzt worden ist:

1. Drei Objektträgerausstriche wurden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur an der Luft liegen gelassen. Einer wurde nach 14 Tagen, der zweite nach 3 Wochen und der dritte Ausstrich nach 4 Wochen gemäß der Vorschrift gefärbt, mit destilliertem Wasser abgespült, getrocknet und eingebettet. Der färberische Erfolg war der gleiche wie bei frischem Sperma.

2. Zwei weitere Präparate, die ebenfalls 4 Wochen bei Zimmertemperatur an der Luft gelegen hatten, wurden nach dieser Zeit noch 3 Tage in eine feuchte Kammer (Petrischale) getan, dann lufttrocken werden lassen und wie sonst gefärbt. Weitere Kontrollpräparate ergaben das gleiche. Durch Zersetzungsvorgänge in der feuchten Kammer sind die chromatinhaltigen Substanzen, auf deren Affinität zum Methylgrün die ganze Färbemethode beruht, zerstört worden und in den Präparaten wurden die Spermaköpfe nicht mehr blau, sondern rötlich-violet gefärbt. Schon hier tauchen daher Zweifel grundsätzlicher Art über die Verwendungsmöglichkeit der von Schatz angegebenen Doppelfärbung für den forensischen Spermanachweis auf.

3. Zur Prüfung, ob die Färbung noch gelingt, wenn Wärme eingewirkt hat, wurden einige Tropfen eines Spermaauszuges auf dem Objektträger über der Flamme erhitzt bis sie eingedampft waren, dann noch wie alle anderen Präparate mit Alkohol fixiert, 2 Min. gefärbt und mit destilliertem Wasser abgespült. Die Trocknung erfolgte nicht einfach an der Luft, sondern wieder über der Flamme. Nach Eindeckung ergab sich mit Oelimmersion betrachtet, daß die Spermaköpfe wiederum nicht mehr blau, sondern rötlich-violett wie bei den vorigen Präparaten gefärbt waren. Will man also die Doppelfärbung mit der von Pappenheim und Krystallowitz zusammengestellten Farblösung ausführen, so darf nicht mit der Flamme fixiert oder die Trocknung erheblich beschleunigt werden.

4. Auf das Spermapräparat wirkte eine Stunde lang verdünnte Kalilauge ein, wie sie zum Aufhellen der Gewebsfasern verwendet wird. Es wurde dann gründlich abgespült und das lufttrockene Präparat wie üblich gefärbt. Auch diesmal zeigten die Köpfe der Spermatozoen nicht die schöne lichtblaue Farbe.

Sie hatten die gleiche rötlich-violette Farbe wie bei den schon erwähnten Untersuchungen angenommen.

5. Auch verdünnte Schwefelsäure wird vielfach zur Beseitigung des störenden Beiwerkes benutzt. Deshalb ließ ich diese ebenfalls eine Stunde lang auf einen anderen lufttrockenen Spermaauszug einwirken. Nachdem wieder gut abgespült worden war, ergab die anschließende Färbung, daß die Spermaköpfe rot gefärbt waren. Daß die von Pappenheim-Krystallowitz angegebene Farblösung weder säure- noch laugenfest ist, zeigten auch Versuche im Reagenzglas. Mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, trat Rotfärbung ein und beim Zusatz von verdünnter Kalilauge gelb-braune Trübung.

6. Das Alter der Spermatozoenköpfe scheint bei der Färbung keine Rolle zu spielen. Ein alter Fleck aus der Sammlung vom Jahre 1928 wurde in Wasser aufgeweicht und der so gewonnene Auszug nach der Vorschrift gefärbt. Gebilde, die die Form und Größe von Spermatozoenköpfen hatten, wurden wie diese schön lichtblau in der typischen von Schatz angegebenen Art gefärbt. Spermatozoenschwänze dagegen waren nicht aufzufinden, da sie wohl durch Continuitätstrennungen verlorengegangen waren.

Will man nun diese spermatozoenkopfähnlichen Elemente als solche mit absoluter Sicherheit ansprechen, so muß unbedingt gefordert werden, daß diese Färbemethode spezifisch ist. Deshalb wurden folgende vergleichende Färbungen angestellt, bei denen die Behandlung genau so durchgeführt wurde, wie bei den Spermaauszügen.

1. Gewöhnliche Kartoffelstärke wurde mit Alkohol auf dem Objektträger fixiert und gefärbt. Die einzelnen Körnchen, von denen die kleinsten an Form und Größe den Spermaköpfen etwas ähnlich waren, wurden durchscheinend grün, also gut unterschiedlich, gefärbt. Ein Kontrollpräparat mit Weizenmehl ergab die gleiche Färbung.

2. Bei Talkum, wie es für Gummihandschuhe verwendet wird, nahmen die einzelnen Teilchen dagegen einen schmutzig-violetten Farbton an, während kleinste Körnchen von Puder eines Fingerlinges, die schon nach Form und Korngröße von Spermatozoenköpfen zu unterscheiden waren, sich blaß violett färbten.

3. Weiterhin wurde Blütenstaub von verschiedenen Pflanzen zum Vergleich gefärbt. Die einzelnen Pollenkörner, die schon durch Form und Größe unterschiedlich von Spermatozoenköpfen sind, nahmen die gleiche violette Farbe an, obwohl sie verschie-

dene Eigenfarbe hatten. Auch abgesprengte kleine Teilchen, die manchmal eine täuschend ähnliche Form wie die Köpfe der Samenfäden annehmen können, waren jederzeit durch die Färbung von diesen zu unterscheiden.

4. Um Einzeller zur Vergleichsfärbung zu erhalten, wurde ein Heuaufguß hergestellt und 3 Tage stehen gelassen. Einige Tropfen der Flüssigkeit wurden auf einen Objektträger getan und an der Luft getrocknet. Nach der Färbung zeigte es sich, daß einige Einzeller der Größe und Gestalt nach wohl mit Spermaköpfen verwechselt werden könnten. Durch den violetten Farbton aber, den sie angenommen hatten, waren die Einzeller einwandfrei von den lichtblauen Spermaköpfen zu differenzieren, wie sich in einem anderen Präparat, dem Sperma beigemischt worden war, besonders schön zeigte.

5. Zum Vergleich haben auch Schatz und sein Assistent verschiedene Hefen gefärbt. Ich besorgte mir aus dem hygienischen Institut Kulturen von Torula und Fariecosus auf 3 %igem Bierwürze-Agar. Das mit der Platinöse entnommene Material wurde zu einigen Tropfen Kochsalzlösung gemischt, und das lufttrockene Präparat wurde dann wie üblich gefärbt. Die Hefezellen, die schon nach der Größe unterschiedlich waren, wurden in der angegebenen Weise karmoisinrot gefärbt.

6. In das Institut wurde die männliche Leiche eines Erhängten eingeliefert, bei der u. a. festzustellen war, ob eine von einer eingetrockneten Flüssigkeit herrührende Spur von Sperma erzeugt worden war. Einige Schüppchen wurden vorsichtig abgelöst und in einen Tropfen Kochsalzlösung gebracht. Im gefärbten Präparat war nur Zelldetritus von rötlich-violetter Farbe zu sehen. Spermatozoen konnten auch kaum erwartet werden, da es sich den Umständen nach nur um Speichelfluß handeln konnte.

7. Von der gleichen Leiche wurde Sekret aus der Prostata entnommen und wie die übrigen Präparate behandelt und gefärbt. Neben den blau-violetten Kernen abgestoßener Zellen fanden sich vereinzelt Zusammenballungen hellblau gefärbter Kerne abgestoßener Drüsenepithelien, die der Größe nach von Spermaköpfen zu unterscheiden waren. Aber allein durch die Färbung eine scharfe Trennung vornehmen zu wollen, noch dazu, wenn diese Kerne nicht in Haufen, sondern vereinzelt vorkommen, oder wenn sie eine kleinere Ansichtsfläche bieten, dürfte auch dem Geübten kaum möglich sein. Erwähnt werden muß noch, daß in diesem Präparat die Spermatozoenköpfe nicht so wie sonst so schön lichtblau gefärbt waren, sondern wohl unter dem

Einfluß des Prostatasekretes mehr grünlich. Die Schwänze waren nicht dargestellt.

8. Ein ganz ähnliches Bild erhielt ich bei einer Vergleichsfärbung eines Abstriches aus einem Bronchus einer 2 Tage alten Leiche. Die Kerne der desquamierten Epithelien waren in der gleichen Weise, fast ebenso wie sonst die Spermaköpfe, gefärbt. Auch mit Bronchialepithel, das ich zur Zerstörung des Protoplasmas 72 Stunden in einer feuchten Kammer faulen ließ, erhielt ich den gleichen blauen Farbton. Ganz geringe Farbqualitäten und -intensitäten bestehen zwar; aber diese fallen praktisch nicht ins Gewicht.

9. Die Kerne im Eiter enthaltener Lympho- und Leukozyten wurden als weitere zellige Substanzen der Färbung unterworfen, die diesmal rötlich-violett, also ganz klar unterschiedlich, ausfiel.

10. Als praktisch wichtig wird im allgemeinen nur die Unterscheidung von Vaginalepithelien und deren Kerne von den Spermatozoenköpfen in Frage kommen. Deshalb führte ich mit Vaginalepithelien von Leichen ebenfalls eine ganze Reihe von Untersuchungen durch. Bei verschieden langer Färbung von 30 Sek. bis zu einer halben Stunde ergab sich immer das gleiche Bild: Das Protoplasma ist rot, und die Kerne sind mehr violett gefärbt. Auch frische Vaginalepithelien (Fall von angeblichen Stuprum) und solche von einer 3 Tage alten Leiche, selbst wenn sie noch 3 weitere Tage in einer feuchten Kammer gehalten wurden, zeigten immer die gleiche Färbung. Wie gut die Kerne der Vaginalepithelien, die schon durch verschiedene Größe von den Spermaköpfen zu unterscheiden sind, sich durch die Färbung von diesen abheben, läßt sich besonders in Ausstrichen von Vaginalschleim demonstrieren, dem man vorher Sperma zugesetzt hat. Neben den rötlich violetten Kernen sind die blau gefärbten Spermaköpfe gut zu erkennen. Die gleiche Wirkung erhält man, wenn man Vaginalepithelien und Sperma mit der Farblösung in einer Kapillare mischt. Das Präparat ist aber nur einige Stunden haltbar.

Die Doppelfärbemethode von Schatz ist also sehr geeignet:

1. Für Demonstrativ-Präparate von Spermatozoen. Die einzelnen Bestandteile wie der Kopf, das etwas stärkere Mittelstück und der Schwanz werden sehr gut und elective dargestellt.

2. Beim Aufsuchen der Spermatozoen, besonders wenn es sich, wie es wohl am häufigsten der Fall sein wird, um deren Differenzierung von Vaginalepithelien handelt; aber nur wenn es sicher ist, daß das Material nicht vorher schädigenden äußeren Einflüssen ausgesetzt war oder mit solchen zelligen Bestand-

teilen in Berührung gekommen ist, die zu einer Verwechslung Anlaß geben könnten. In einem solchen Fall kann sogar, je nach der Erfahrung und Sicherheit des Untersuchers, von dem alten Grundsatz, daß zum positiven Spermanachweis unbedingt das Vorhandensein eines Spermatozoons in seiner Ganzheit gefordert werden muß, abgegangen werden. Die unbegeißelten Spermatozoenköpfe dürfen aber nur als solche angesprochen und ausgewertet werden, wenn mehrere vorhanden sind, die die Größe, wie auch die charakteristische Gestalt haben und die für diese Doppelfärbemethode typische Blaufärbung angenommen haben.

Viel bedeutungsvoller als der Nachweis von Spermatozoen in Auszügen ist die Untersuchung von Spermaflecken. Hierbei ohne langwierige Vorbehandlung und Mazerationen möglichst sicher und schnell zu einem Ergebnis zu kommen, muß das Ziel bei jedem Vorschlag einer neuen Färbemethode sein. Die Doppelfärbemethode von Schatz wandte ich deshalb auch bei der Prüfung von Spermaflecken an. Mit der Pinzette wurden vorsichtig aus dem zu untersuchenden Gewebe einige Fasern gelöst, auf dem Objektträger sorgfältig zerzupft, mit Alkohol fixiert und dann gefärbt. Ein Präparat wurde nun sofort eingedeckt und untersucht. Die Gewebsfasern werden sehr dunkel gefärbt, die Spermatozoenköpfe sind dagegen durch ihre lichtblaue Farbe zu erkennen. Jedoch besteht in diesem Fall die Gefahr der Verwechslung mit isolierten Tropfen der Farblösung. Außerdem ist das Präparat nicht haltbar. Bei einem zweiten Präparat ließ ich deshalb die Farblösung nach der Färbezeit ablaufen und ließ es trocknen. Das Beiwerk wird nun aber noch dunkler gefärbt und die Spermaköpfe sind kaum noch zu erkennen. Ein drittes Präparat wurde daher nach der Färbung mit destilliertem Wasser abgespült. Hierbei muß man aber sehr vorsichtig zu Werke gehen; denn nur zu leicht werden sonst die Gewebsfasern mit weggespült. Die einzelnen Fasern haben durch das Abspülen von der blauen Farbkomponente erheblich verloren und sind nun fast hellrot gefärbt. Die wie immer lichtblauen Spermatozoenköpfe sind deutlich sichtbar und einwandfrei als solche zu erkennen, auch bei anderen farbigen Geweben; nur dann natürlich nicht, wenn diese Blau als Eigenfarbe haben.

Bei fast allen anderen Färbemethoden wird eine Aufhellung der Gewebsfasern durch den Zusatz von Schwefelsäure oder Kalilauge erzielt. Dies ist bei dieser Doppelfärbung leider nicht möglich, da die Einwirkung dieser Reagentien, wie schon erwähnt, den Erfolg der Färbung in Frage stellen.

Ich habe also gezeigt, daß die von Schatz im „Archiv für Kriminologie“ empfohlene Doppelfärbemethode in manchen Fällen gewiß gute Dienste leisten wird. Ihre vorbehaltlose Anwendung aber läßt sich mit der weittragenden Bedeutung, die gerichtsärztliche Entscheidungen in jedem Falle haben, nicht vereinbaren.

Zusammenfassung.

I. Eine absolut spezifische Färbemethode zum forensischen Nachweis der Spermatozoen gibt es bis heute nicht. Auch die von Schatz angegebene Doppelfärbemethode ist nicht spezifisch.

II. Der alte Grundsatz, daß zum positiven Spermanachweis mindestens ein Spermatozoon in seiner Ganzheit aufgefunden werden muß, dürfte höchstens unter folgenden Bedingungen, die gleichzeitig erfüllt sein müssen, eingeschränkt werden:

1. Es müßte nach der von Schatz beschriebenen Doppelfärbung mit der Pappenheim-Krystallowitz'schen Lösung gefärbt worden sein.
2. Es müßten mehrere unbegeißelte Spermatozoenköpfe aufgefunden werden, die der Größe, Gestalt und Färbung nach mit absoluter Sicherheit als solche angesprochen werden können.
3. Es muß als sicher feststehen, daß das Untersuchungsmaterial schädigenden äußeren Einflüssen nicht ausgesetzt war.

III. Da diese Forderungen nur sehr selten mit Sicherheit erfüllt sein werden, kann der von Schatz angegebenen Doppelfärbemethode für Spermatozoen eine praktische Bedeutung nicht zuerkannt werden.

Herrn Professor Dr. Walcher danke ich für die Überlassung des Themas und für die gegebenen Anregungen bei der Abfassung desselben.

Literaturverzeichnis.

1. Baecchi: Über eine Methode zur direkten Untersuchung der Spermatozoen auf Zeugflecken. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1912.
2. Barberio: Neuer Beitrag zu meiner Spermareaction. Deutsche Med.-Wochenschrift 1911.
3. Bokarius: Über einige mikrochemische Reactionen des Spermas. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1907.
4. Böttcher: Farblose Kristalle eines eiweißartigen Körpers aus menschlichen Samen dargestellt. Virchow's Archiv Bd. 32.
5. Corin et Stockis: Nouvelle méthode de recherche des tasches spermatiques sur le ligne. Archives d'anthropologie criminelle de médizine légale et de physiologie normale et pathologique 1908.
6. de Dominicis: Über die Prüfung von Spermaflecken. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1903.
7. Filomusi-Guelfi: Referat. Virchow-Hirsch's Jahresbericht 1892 I S. 470.
8. Florence: Du sperme et de tasches de sperme. Archives de l'anthropologie criminelle etc. 1895.
9. Fränckel: Der gegenwärtige Stand des forensischen Spermanachweises. Zeitschrift für Medizinalbeamte 1907.
10. Grigorjew: Zur Frage der Technik feinerer Untersuchungen der Flecken von Blut und Sperma. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1902.
11. Güntsch: Über forensische Spermauntersuchung mit besonderer Berücksichtigung der Barberio'schen Methode mittelst konzentrierter Pikrinsäurelösungen. Inaugural-Dissertation Königsberg 1911.
12. Hager: cit. bei Güntsch (Inaug.-Diss. Königsberg 1911).
13. Heller: Eine neue optische Methode zur Auffindung von Spermaspuren. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1915.
14. Joesten: Elective Färbung der Spermatozoen im Gewebe. Münch. Med.-Wochenschrift 1911.
15. Koblanck: Zur Diagnostik der Samenflecke. Vierteljahresschrift für gerichtliche und öffentliche Medizin von Johann Casper 1853.

16. Laraß: Die Verwendung der Quecksilberchloridjodidreaction zum forensischen Blut- und Spermanachweis. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1910.

17. Lassaigne: Observations sur quelques reactions que présentent les tasches spermatiques. Annales d'hygiene publique 1858.

18. Lecha-Marzo: Identification des Spermas. Münch. Med.-Wochenschrift 1907 Nr. 17.

19. Lochte: Die Untersuchung von Sperma. Gerichtsärztliche und polizeiärztliche Technik S. 239—251.

20. Longuet: Recherche médico-légale des spermatozoides. Annales d'hygiene publique 1876.

21. de Nabele: cit. bei Güntsch (Inaug.-Diss. Königsberg 1911) und Weinschenk (Anleitung zum Gebrauch des Polarisationsmikroskopes).

22. Orfila: Wiener klinische Wochenschrift 1897 Nr. 24.

23. Petel-Labiche: Referat. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1877.

24. Puppe: Spermatozoennachweis. Atlas und Grundriß der gerichtlichen Medizin.

25. Puranen: Spermaidentifizierung. Deutsche Zeitschrift für die gesamte ger. Medizin 1936.

26. Renaut: Recherche des spermatozoides. Annales d'hygiene publique 1880.

27. Richter: Der mikrochemische Nachweis von Sperma. Wiener klinische Wochenschrift 1897.

28. Roussin: Examen microscopique des tasches de sperme. Annales d'hygiene publique 1867.

29. Schatz: Doppelfärbung von Spermapräparaten. Archiv für Kriminologie 1936. Bd. 98 3. u. 4. Heft.

30. Schwarzacher: Die Methoden der forensischen Spermauntersuchungen. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden Bd. 12.

31. G. Straßmann: Grundriß der gerichtlichen und versicherungsrechtlichen Medizin. S. 60—64.

32. — Ein Beitrag zum Spermanachweis. Ärztliche Sachverständigen-Zeitung 1921.

33. Thoinot: Über den Wert von Proben auf Blut in Flecken nach van Deen und Meyer einerseits und in Spermaflecken nach Florence und Barberio andererseits. Annales d'hygiene publique 1910.

34. Ungar: Zum Nachweis der Spermatozoen in angetrocknetem Sperma. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1887.

35. Vogel: Untersuchung von Spermaflecken. Vierteljahresschrift für gerichtliche Medizin 1882.

Lebenslauf.

Am 24. Oktober 1910 wurde ich, Georg, Ernst, Hermann Kellner in Nietleben bei Halle a. S. geboren. Meine Eltern sind der Oberinspektor i. R. Rudolf Kellner und seine Ehefrau Johanne geb. Steinmetz.

Die Vorschule besuchte ich von Ostern 1917 bis Ostern 1920 in Mühlhausen i. Thr. und bis 1923 die dortige Oberrealschule. Am 1. März 1929 bestand ich die Reifeprüfung an der Oberrealschule der Franckeschen Stiftungen in Halle. Vom 1. April 1929 bis 12. Dezember 1931 diente ich bei der Reichsmarine (Kriegsmarine). Ich erhielt dort eine eingehende technische und seemännische Ausbildung und lernte auf zwei Auslandsreisen mit den Kreuzern „Emden" und „Karlsruhe" viele Hafenstädte und deren nähere Umgebung hauptsächlich in Süd- und Nordamerika und Afrika kennen.

Im Wintersemester 1931/32 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Dort bestand ich auch die ärztliche Vorprüfung im Sommer 1934. Während der klinischen Semester blieb ich ebenfalls in Halle und erhielt am 25. August 1937 die Zulassung zum Praktischen Jahr. Vom 1. September bis 30. Oktober war ich Medizinal-Praktikant am Knappschaftskrankenhaus Carlsfeld. Am 1. November 1937 trat ich wieder in die Wehrmacht ein und wurde Unterarzt in der Sanitätsabteilung 4 (Standortlazarett Dresden).